

21. Okt. 2002

10/519419



REC'D 08 NOV 2002
WIPO PCT

10 Rec'd PCT/PTO 22 DEC 2004

Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 102 01 693.3

Anmeldetag: 17. Januar 2002

Anmelder/Inhaber: HAEMATO-basics GmbH,
Luckenwalde/DE

Bezeichnung: Metallorganisches Antitumormittel

IPC: A 61 K 31/30

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 18. Juli 2002
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Weihmayer

WEICKMANN & WEICKMANN
Patentanwälte
European Patent Attorneys · European Trademark Attorneys

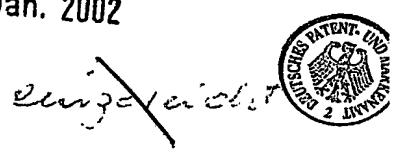
DIPL.-ING. H. WEICKMANN (bis 31.1.01)
DIPL.-ING. F. A. WEICKMANN
DIPL.-CHEM. B. HUBER
DR.-ING. H. LISKA
DIPL.-PHYS. DR. J. PRECHTEL
DIPL.-CHEM. DR. B. BÖHM
DIPL.-CHEM. DR. W. WEISS
DIPL.-PHYS. DR. J. TIESMEYER
DIPL.-PHYS. DR. M. HERZOG
DIPL.-PHYS. B. RUTTENSPERGER
DIPL.-PHYS. DR.-ING. V. JORDAN
DIPL.-CHEM. DR. M. DEY
DIPL.-FORSTW. DR. J. LACHNIT

Unser Zeichen:
25628P DE/HBDRwr

17. Jan. 2002

Anmelder:
HAEMATO-basics GmbH
Biotechnologiepark, TGZ II

14943 Luckenwalde
DEUTSCHLAND



Metallorganisches Antitumormittel

Metallorganisches Antitumormittel

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft Komplexe der allgemeinen Formel



10

wobei

D ein β -Diketon, M ein Metallatom und T eine Substanz mit mindestens einer N-, O- oder S-enthaltenden Gruppe darstellt, sowie deren Verwendung als Antitumormittel.

15

In Deutschland erkranken jährlich 300.000 Menschen an Krebs und etwa jeder fünfte Deutsche stirbt an einer Tumorerkrankung, eine Zahl, die zweifelsohne in den nächsten Jahren zunehmen wird. Etwa 55 % aller Krebspatienten werden mit einer noch örtlich begrenzten Tumorerkrankung diagnostiziert, während bei den restlichen 45 % eine bereits fortgeschrittene, metastasierende Tumorerkrankung vorliegt. Viele Krebserkrankungen können jedoch durch rechtzeitige Diagnostik und Therapie geheilt werden. Grundsätzlich gibt es verschiedene Therapieformen, um Krebs zu behandeln. Hauptziel einer jeden Krebstherapie ist dabei jedoch immer die maximale Zerstörung und Entfernung aller Tumorzellen bei möglichst geringer Schädigung des den Tumor umgebenden normalen Gewebes.

20

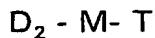
Örtlich begrenzte Tumorerkrankungen werden vorwiegend durch lokale Therapiemaßnahmen, wie Chirurgie und Strahlentherapie, behandelt. Bei der Chirurgie wird der Primärtumor durch eine Operation möglichst vollständig entfernt, während die Tumorzellen im Primärtumor mit Hilfe der Strahlentherapie durch gezielte Bestrahlung abgetötet werden. Angriffsort

der Bestrahlung ist die im Zellkern jeder Zelle befindliche DNA. Die Bestrahlung führt zu einer Vielzahl von DNA-Schäden, die nicht mehr vollständig von zelleigenen Enzymen repariert werden können. Als Folge davon leitet die Zelle den programmierter durchgeführten Zelltod ein. In weiteren Schritten werden die geschädigten Zellen aufgelöst und die dabei entstehenden Fragmente werden vom Immunsystem des Körpers abgebaut.

Örtlich begrenzte Tumorerkrankungen können sich jedoch über die Lymph- und Blutbahnen ausbreiten. Haben sich schon Metastasen in anderen Organen des Körpers angesiedelt, so reichen die lokalen Therapiemaßnahmen alleine nicht mehr aus, um die weitere Ausbreitung der Tumorerkrankung zu stoppen. In diesen Fällen muss die Behandlung den gesamten Körper umfassen, was durch eine Chemotherapie erreicht werden kann. Bei der Chemotherapie werden gezielt Substanzen, nämlich Zytostatika, verabreicht, welche das Wachstum von Tumorzellen hemmen und somit die Tumorzellen abtöten. Zu den bekannten Zytostatika zählen Antimetabolite, Topoisomerase-Hemmer, alkylierende Wirkstoffe und pflanzliche Alkaloide. Obwohl alle Zytostatika eine Hemmung des Tumorzellwachstums bewirken, sind die den verschiedenen Zytostatika zugrundeliegenden Wirkprinzipien völlig verschieden. Ein möglichst großes Spektrum von Zytostatika mit unterschiedlichen Wirkprinzipien ist für die Behandlung der verschiedenen Tumorerkrankungen von entscheidender Bedeutung, da jede Tumorerkrankung anders ist und eine spezifische Art der Behandlung benötigt. Trotz der großen Anzahl der bislang bekannten Zytostatika können bislang noch nicht alle Tumorerkrankungen therapiert werden. Daher besteht immer noch ein fortwährendes Interesse an der Entwicklung neuartiger Zytostatika.

Der vorliegenden Erfindung lag daher die Aufgabe zugrunde, neuartige Komplexe zu schaffen, welche Zytostatika mit hoher Antitumorwirksamkeit und breitem Wirkungsspektrum gegenüber einer Vielzahl von Tumorerkrankungen darstellen.

Diese Aufgabe wurde erfindungsgemäß durch Bereitstellung eines Komplexes der allgemeinen Formel



5

gelöst, wobei

D ein β -Diketon darstellt,

M ein Metallatom, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Cr, Cu, Mn, Fe, Ni, Co, Zn und Mo darstellt,

10 T eine Substanz mit mindestens einer N-, O- oder S-enthaltenden Gruppe darstellt und

wobei M mit T in einer Elektronen-Donor-Akzeptor-Wechselwirkung steht und M im Komplex eine freie Koordinationsstelle aufweist.

15 Der erfindungsgemäße Komplex bildet eine neue Klasse von monokristallinen, metallorganischen Komplexverbindungen mit tetragonal-bipyramidaler Geometrie. Das Metallatom M des erfindungsgemäßen Komplexes befindet sich im Zentrum der tetragonalen Bipyramide. Die beiden zweizähnigen β -Diketonliganden D nehmen jeweils mit ihren beiden Komplex-bildenden Sauerstoffatomen die vier äquatorialen Positionen der tetragonalen Bipyramide ein. Eine der beiden axialen Positionen der tetragonalen Bipyramide ist durch die Substanz T besetzt, wobei das N- bzw. O- bzw. S-Atom der N- bzw. O- bzw. S-enthaltenden Gruppe der Substanz T als Komplex-bildendes Atom dient und in einer Elektronen-20 Donor-Akzeptor-Wechselwirkung mit dem Metallatom M steht. An der anderen axialen Position der tetragonalen Bipyramide befindet sich eine freie Koordinationsstelle. Die freie Koordinationsstelle am Metallatom M des erfindungsgemäßen Komplexes ermöglicht eine spezifische Wechselwirkung mit anderen Molekülen, wie z.B. mit Sauerstoff, Stickoxiden oder einer molekularen Bindungsstelle auf der Oberfläche von 25 Target-Zellen etc.

Strukturelle Untersuchungen konnten zeigen, dass das Metallatom M des erfindungsgemäßen Komplexes etwa 2 Å von seiner idealen Position in der tetragonalen Bipyramide in Richtung der Substanz T abweicht. Dadurch nimmt die Elektronen-Donor-Akzeptor-Wechselwirkung zwischen dem
5 Metallatom M und der Substanz T den Charakter einer Doppelbindung an. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass zwei der vier äquatorialen Positionen etwas in Richtung des Metallatoms verlagert sind, während die anderen beiden äquatorialen Positionen etwas von dem Metallatom entfernt angeordnet sind.

¹⁰
Das β -Diketon D des erfindungsgemäßen Komplexes ist dadurch ausgezeichnet, dass seine dreidimensionale Struktur (i) eine optimale Chelatbildung mit dem Metallatom M an dessen äquatorialen Koordinationsstellen ermöglicht und (ii) die Elektronen-Donor-Akzeptor-
15 Wechselwirkung zwischen der Substanz T und dem Metallatom M nicht stört. Vorzugsweise ist das β -Diketon jedoch ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Acetylaceton, Dibenzoylmethan und Diethyldithiocarbamin.

Das Metallatom M des erfindungsgemäßen Komplexes ist ausgewählt aus
20 der Gruppe, bestehend aus Cr, Cu, Mn, Fe, Ni, Co, Zn und Mo. Überdies ist das Metallatom M dadurch gekennzeichnet, dass es eine tetragonal-bipyramidale Anordnung der Liganden D und T ermöglicht, wobei eine axiale Koordinationsstelle des Metallatoms frei bleibt. Besonders bevorzugte Metallatome M sind Cu und Mn.

25 Die Substanz T des erfindungsgemäßen Komplexes weist mindestens eine N-, O- oder S-enthaltende Gruppe auf, die über das N- bzw. O- bzw. S-Atom eine Elektronen-Donor-Akzeptor-Wechselwirkung mit dem Metallatom M an einer der axialen Koordinationsstellen von M eingeht. Dabei wirkt das
30 N- bzw. O- bzw. S-Atom der Substanz T als Elektronendonator und stellt dem Metallatom M als Elektronenakzeptor ein freies Elektronenpaar zur Verfügung. Vorzugsweise weist die Substanz T mindestens eine NH₂-, NH-,

N-, O- oder S-enthaltende Gruppe auf. In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung weist die Substanz T bereits eine Antitumorwirksamkeit auf und ist ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus 2,4-Dihydroxy-5-fluorpyrimidin, 5-Fluor-1-(tetrahydro-2-furyl)-uracil, 2-[Bis-(2-chlorethyl)-amino]-tetrahydro-2H-1,3,2-oxazephosphorin-2-oxid, 1,2-Imidopropylsäureamid, 2-Hydroxymethyl-5-hydroxy-γ-pyrone, 2,4,6-Trimethylpyridin, 2,4,6-Tri-2-pyridyl-1,3,5-triazin, 4-[Bis-(2-chlorethyl)-amino]-L-phenylalanin, 2-(3-Pyridyl)-piperidin, 2-2'-Bipyridin, 2-Methyl-(5-trimethyl-butyl-1-il-ol-3)-pyridin, 2-Methyl-(3-dimethyl-amino-1-propinyl)-pyridin und 2-Methyl-5-ethylen-pyridin.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst der erfindungsgemäße Komplex Kupfer als zentrales Metallatom M, Acetylaceton als β-Diketon D und eine Substanz, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus 2,4-Dihydroxy-5-fluorpyrimidin, 5-Fluor-1-(tetrahydro-2-furyl)-uracil, 2-[Bis-(2-chlorethyl)-amino]-tetrahydro-2H-1,3,2-oxazephosphorin-2-oxid, 1,2-Imidopropylsäureamid, 2-Hydroxymethyl-5-hydroxy-γ-pyrone, 2,4,6-Trimethylpyridin, 2,4,6-Tri-2-pyridyl-1,3,5-triazin, 4-[Bis-(2-chlorethyl)-amino]-L-phenylalanin, 2-(3-Pyridyl)-piperidin, 2-2'-Bipyridin, 2-Methyl-(5-trimethyl-butyl-1-il-ol-3)-pyridin, 2-Methyl-(3-dimethyl-amino-1-propinyl)-pyridin und 2-Methyl-5-ethylen-pyridin als Substanz T.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst der erfindungsgemäße Komplex Mn als zentrales Metallatom M, Acetylaceton als β-Diketon D und eine Substanz, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus 2,4,6-Trimethylpyridin, 2,4,6-Tri-2-pyridyl-1,3,5-triazin, 2-2'-Bipyridin, 2-(3-Pyridyl)-piperidin, 1,2-Imidopropylsäureamid und 4-[Bis-(2-chlorethyl)-amino]-L-phenylalanin als Substanz T.

Es hat sich nun überraschenderweise gezeigt, dass der erfindungsgemäße Komplex eine neue Klasse von Zytostatika mit ausgezeichneter

Antitumorwirksamkeit bildet. Stellt die Substanz T in einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Komplexes bereits ein Antitumormittel dar, wurde festgestellt, dass der erfindungsgemäße Komplex eine im Vergleich zu der darin enthaltenen Substanz T stark erhöhte Antitumorwirksamkeit zeigt. Zudem weist der erfindungsgemäße Komplex immunmodulatorische und antiproliferative Eigenschaften sowie eine anti-angiogene Wirksamkeit auf und besitzt eine gegenüber herkömmlichen Antitumormitteln stark erhöhte Hydrolysestabilität, wodurch er in weiten Bereichen der Tumorbekämpfung einsetzbar ist. Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass der erfindungsgemäße Komplex keine 10 Arzneimittelresistenz hervorruft und unter bestimmten Bedingungen in der Lage ist, Apoptose und Angiogenese bei Krebszellen herbeizuführen.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung betrifft demzufolge 15 eine pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend wenigstens einen erfindungsgemäßen Komplex. Die pharmazeutische Zusammensetzung kann einen einzigen erfindungsgemäßen Komplex oder eine Kombination aus mehreren erfindungsgemäßen Komplexen als Wirkstoff enthalten. Des Weiteren kann die pharmazeutische Zusammensetzung gegebenenfalls dem 20 Fachmann hinreichend bekannte, herkömmlich verwendete pharmazeutische Zusatzstoffe enthalten, wie z.B. physiologisch verträgliche Trägersubstanzen, Verdünnungsmittel und Hilfsmittel.

Die erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung kann in einer 25 topisch, parenteral, intravenös, intramuskulär, subkutan oder transdermal verabreichbaren Form vorliegen und kann mit Hilfe von herkömmlichen, im Stand der Technik gut bekannten Verfahren hergestellt werden. Vorzugsweise wird die erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung in Form von Tabletten oder als intravenöse Injektion 30 bzw. Infusion hergestellt.

Die erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung wird zur Behandlung von Tumoren eingesetzt. Die Bezeichnung "Tumor", wie hierin verwendet, umfasst jede örtliche Zunahme des Gewebevolumens. Das heißt im weitesten Sinne jede lokalisierte Anschwellung durch Ödem, akute und chronische Entzündung, aneurysmatische Erweiterung und entzündlich bedingte Organschwellung, sowie im engsten Sinne eine gewebliche Neubildung (z.B. Gewächs, Blastom, Neoplasie) in Form eines spontanen, verschiedengradig enthemmten, autonomen und irreversiblen Überschusswachstums von körpereigenem Gewebe, das in der Regel mit unterschiedlich ausgeprägtem Verlust spezifischer Zell- und Gewebefunktionen verbunden ist. Beispiele für Tumorerkrankungen, die mit Hilfe der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung behandelt werden können, umfassen Darmkrebs, Hirntumor, Augentumor, Pankreaskarzinom, Harnblasenkarzinom, Lungenkrebs, Brustkrebs, Ovarialtumor, Gebärmutterkrebs, Knochenkrebs, Gallenblasen- und Gallengangskarzinom, Kopf-Hals-Tumor, Hautkrebs, Hodenkrebs, Nierentumor, Keimzelltumor, Leberkrebs, Leukämie, malignes Lymphom, Nerventumor, Neuroplastom, Prostatakrebs, Weichteiltumor, Speiseröhrenkrebs sowie Karzinome bei unbekanntem Primärtumor.

Die Bezeichnung "Behandlung von Tumoren", wie hierin verwendet, umfasst wenigstens eines der folgenden Merkmale: eine Linderung der mit der Tumorerkrankung verbundenen Symptome, eine Verringerung des Ausmaßes der Tumorerkrankung (z.B. eine Reduktion des Tumorwachstums), eine Stabilisierung des Zustandes der Tumorerkrankung (z.B. eine Inhibierung des Tumorwachstums), eine Verhinderung einer weiteren Ausbreitung der Tumorerkrankung (z.B. eine Metastasierung), eine Verhinderung des Auftretens oder Wiederauftretens einer Tumorerkrankung, eine Verzögerung oder Verlangsamung des Verlaufs der Tumorerkrankung (z.B. eine Reduktion des Tumorwachstums) oder eine Verbesserung des Zustandes der Tumorerkrankung (z.B. eine Verkleinerung des Tumors).

Vorzugsweise wird die erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung einem Patienten mit einer Tumorerkrankung in einer Menge verabreicht, die ausreichend ist, um eine Behandlung des entsprechenden Tumors zu erzielen. Die zu verabreichende Menge der pharmazeutischen Zusammensetzung hängt dabei von mehreren Faktoren ab, wie z.B. der Wahl des erfindungsgemäßen Komplexes (Spezifität, Wirksamkeit etc.), der Art der Verabreichung (Tablette, Injektion, Infusion etc.), der Art und dem Ausmaß der Tumorerkrankung und dem Alter, Gewicht und Allgemeinzustand des Patienten, und kann ohne weiteres von einem Fachmann auf dem Gebiet der Tumorerkrankung unter Berücksichtigung der oben genannten Faktoren bestimmt werden. Vorzugsweise werden die erfindungsgemäßen Komplexe jedoch im Bereich von 1 µg/kg Körpergewicht des Patienten bis 5 mg/kg Körpergewicht des Patienten, vorzugsweise von 1 µg/kg Körpergewicht des Patienten bis 0,5 mg/kg Körpergewicht des Patienten und besonders bevorzugt von 10 µg/kg Körpergewicht des Patienten bis 0,1 mg/kg Körpergewicht des Patienten, verabreicht.

Die Verabreichung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung erfolgt topisch, parenteral, intravenös, intramuskulär, subkutan oder transdermal. Vorzugsweise wird die pharmazeutische Zusammensetzung in Form von Tabletten oder als intravenöse Injektion bzw. Infusion verabreicht. In einzelnen Fällen kann auch eine gezielte Einspritzung der pharmazeutischen Zusammensetzung in Körperhöhlen oder über einen Katheter in die Blutgefäße der Tumorregion bzw. des Organs, in dem der Tumor sitzt, erfolgen.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung eines erfindungsgemäßen Komplexes zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumoren.

Die nachfolgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern.

Beispiele

Beispiel 1: Herstellung eines erfindungsgemäßen Komplexes am Beispiel von $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$

5 a) Synthese von $Cu(C_5H_7O_2)_2$
Zu einer Lösung von 20,4 g $CuCl \times 2H_2O$ in 125 ml Wasser wurden 25 ml frisch destilliertes $C_5H_9O_2$, gelöst in 50 ml Methanol, unter ständigem Rühren gegeben. Dann wurde eine Lösung aus 20 g Natriumacetat in 75 ml 10 Wasser zu dieser Mischung gegeben. Das so erhaltene Gemisch wurde im Wasserbad bis zum Sieden erhitzt und anschließend auf Zimmertemperatur abgekühlt. Das gebildete $Cu(C_5H_7O_2)_2$ wurde aus Methanol auskristallisiert. Einige Stunden nach der vollständigen Auskristallisation wurden die blauen $Cu(C_5H_7O_2)_2$ -Kristalle abfiltriert, mit Wasser gewaschen und bei einer 15 Temperatur von 80 °C und einem Druck von 6 mm Hg vakuumgetrocknet.

b) Synthese des Komplexes $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$
Zu 0,01 Mol Cu $(C_5H_7O_2)_2$ in 20 ml Lösungsmittel wurden unter ständigem Rühren 20 ml einer 0,02 molaren Lösung aus $C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ (4-[Bis(2-chlorethyl)-amino]-L-phenylalanin) gegeben.
20

Variante 1: Das Glasgefäß mit der so erhaltenen Lösung wurde mit einem Polyethylenverschluss abgedichtet und für einige Tage zur langsamen Auskristallisation an einem dunklen Ort gelagert. Nach einigen Tagen 25 wurden die grünen $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ -Kristalle abgetrennt und mehrere Male mit einem Lösungsmittel von physikalisch anhaftenden $C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ -Molekülen gereinigt. Danach wurden die $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ -Kristalle an der Luft getrocknet.
25

Variante 2: Die so erhaltene Lösung wurde in einem Rotationsverdampfer 30 verdampft, wobei das Lösungsmittel unter Vakuumbedingungen (6 mm Hg) bei einer Temperatur von 40 °C abgesaugt wurde. Die grün gefärbten

(C₅H₇O₂)₂-Cu-C₁₃H₁₈Cl₂N₂O₂-Kristalle wurden aus dem Glaskolben entnommen, mit Lösungsmittel gereinigt und an der Luft getrocknet.

5 **Beispiel 2: Hydrolysestabilität der erfindungsgemäßen Komplexe am Beispiel von (C₅H₇O₂)₂-Cu-C₁₃H₁₈Cl₂N₂O₂**

I. Hydrolysestabilität in Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung

10 0,6 g (C₅H₇O₂)₂-Cu-C₁₃H₁₈Cl₂N₂O₂ wurden mit Hilfe eines Ultraschallgenerators (Frequenz: 15 kHz, 10 Minuten) in 100 ml Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung dispergiert. Die so erhaltene Lösung war über einen Zeitraum von 30 Tagen bei 20 °C stabil und zeigte in diesem Zeitraum keine Hydrolyse.

15 II. Hydrolysestabilität in Olivenöl

15 0,6 g (C₅H₇O₂)₂-Cu-C₁₃H₁₈Cl₂N₂O₂ wurden mit Hilfe eines Ultraschallgenerators (Frequenz: 15 kHz, 10 Minuten) in 100 ml 100 %igem Olivenöl dispergiert. Die so erhaltene Lösung war über einen Zeitraum von mehr als 2 Jahren bei 20 °C stabil und zeigte keine Hydrolyse.

20 III. Hydrolysestabilität in Linolsäure oder Linolensäure

20 0,1 g (C₅H₇O₂)₂-Cu-C₁₃H₁₈Cl₂N₂O₂ wurden mit Hilfe eines Ultraschallgenerators (Frequenz: 15 kHz, 10 Minuten) in 100 ml Linolsäure oder Linolensäure dispergiert. Die so erhaltene Lösung wies eine hellgrüne Farbe auf und war an der Luft bei 20 °C über einen Zeitraum von 1 Jahr stabil.

Beispiel 3: Antitumorwirksamkeit der erfindungsgemäßen Komplexe

1) 10 Mäusen der Linie Balb, welche den Tumor Akaton enthielten, wurde Cu(acac)₂M intraabdominal in einer Dosis von 5 mg/kg in 0,3 ml physiologischer Kochsalzlösung verabfolgt. Zur Kontrolle wurden 10 weitere Mäuse der gleichen Art mit dem gleichen Tumor ohne Behandlung

bestimmt. Bei den Kontrollmäusen wurde ein durchschnittliches Tumorgewicht von 3,60 g festgestellt, bei den behandelten Mäusen betrug das durchschnittliche Tumorgewicht 0,3 g. In der nachfolgenden Tabelle 1 sind die Ergebnisse bei den erfindungsgemäß behandelten Mäusen angegeben mit Gewicht und Größe des Tumors. Im Vergleich zur Kontrollserie ergibt sich daraus eine 91,9 %-ige Hemmung des Tumors.

Tabelle 1

Mäuse	Gewicht des Tumors in g	Größe des Tumors
1	0	0
2	0	0
3	0,35	0,2 x 0,2 x 0,2
4	1,13	1,4 x 0,7 x 0,6
5	0,8	0,8 x 0,8 x 0,5
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0,49	0,3 x 0,2 x 0,2
10	verendet	-

Die nachstehende Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der Kontrollserie un behandelter Mäuse mit ebenfalls Gewicht und Größe des Tumors angegeben. Das durchschnittliche Gewicht des Tumors betrug 3,60 g.

Tabelle 2

Mäuse	Gewichts des Tumors in g	Größe des Tumors
1	1,61	1,6 x 1,0 x 0,7
2	1,69	2,5 x 2,0 x 0,8
3	6,48	3,6 x 2,5 x 1,6
4	2,93	3,0 x 1,0 x 0,7
5	3,75	3,5 x 1,5 x 0,7
6	2,56	3,1 x 1,0 x 1,7
7	3,69	3,0 x 2,0 x 1,0
8	5,22	3,0 x 2,5 x 1,0
9	4,85	3,0 x 2,0 x 1,0
10	3,23	2,6 x 1,5 x 1,0

15

**2. Antitumoraktivität bei Akatontumoren und intravenöser Verabreichung
(viermal in physiologischer Kochsalzlösung)**

Die Ergebnisse zeigt die nachstehende Tabelle 3.

20

Tabelle 3

Präparate	Dosis des Präparates	Anzahl der Tiere	Masse des Tumors	% der Hemmung
$(\text{Cu}(\text{acac})_2\text{M}$	5 mg/kg	6	0,9	80
Kontrolle	-	6	4,4	

25

3. Antitumoraktivität bei Tumor Akaton, welcher nach Verabreichung des Präparates verpflanzt wurde.

Tabelle 4

Präparate	Dosis des Präparates	Anzahl der Tiere	Masse des Tumors	% der Hemmung	Ausmaß des Tumors in cm ³	% der Hemmung
Cu(acac) ₂ M	5 mg/kg	6	0,91	80	1,38	82,5
Kontrolle		6	4,46		7,9	

Der erfindungsgemäße Wirkstoff wurde in physiologischer Kochsalzlösung von je 0,3 ml in der in der Tabelle angegebenen Dosierung 4 Tage hintereinander intravenös verabreicht. Danach wurde den Balb-Mäusen der Tumor Akaton eingepflanzt. 21 Tage nach Verpflanzung des Tumors wurden die Tiere getötet und Gewicht und Größe des Tumors registriert. Im Verlauf des Versuchs erhielten die Tiere keine sonstigen Arzneimittel und wurden bei normaler Futterration gehalten. Die Ergebnisse zeigen, dass der erfindungsgemäße Wirkstoff sich im Organismus anlagern kann und über eine prolongierende Wirkung verfügt.

4. Antitumoraktivität bei Sarkom C-180

In der nachstehenden Tabelle 5 sind die Ergebnisse von Versuchsreihen dargestellt, bei denen der angegebene Wirkstoff intraperitoneal in physiologischer Kochsalzlösung in der angegebenen Dosierung verabreicht wurde.

Tabelle 5

Präparat	Dosis des Präparates	Anzahl der Tiere	Masse des Tumors	% der Hemmung
Cu(acac) ₂ M	5 mg/kg	6	Kein Tumor	100
Melfalan	5 mg/kg	10	2,4 ± 1,1	49
Kontrolle		10	2,8	

5. Wirksamkeit bei Leukämie

Die therapeutische Wirksamkeit wurde an Leukämietumorstämmen L-1210, P-388 und speziell auf Medikamentenresistenz erzielten Stämmen P-388 untersucht. Die Lebensdauer der Tiere wurde dabei mit 60 Tagen angesetzt. Medikamenten-resistente Tumoren wurden erhalten durch aufeinanderfolgende Verpflanzung der Leukämie P-388 mit Asciteszellen, welche Mäusen entnommen wurden, die mit Rubomyzin (Stamm P388/ph), Vinkristin (P388/vcr) und Zisplastin (P388/cPt) behandelt worden waren.

Die Resistenz gegenüber den genannten Präparaten stellte sich bei der 8-ten, 6-ten und 4-ten Generation ein. Die Untersuchungen ergaben, dass die Stämme P388/ph und P388/vcr über einen Phenotyp und einen Genotyp mit multifaktorieller Medikamentenresistenz verfügten.

Die Ergebnisse zeigen die nachfolgenden Tabellen 6, 7 und 8,

5a. Leukämie L-1210

Inokulum: 10^6 Zellen in 0,2 ml physiologischer Kochsalzlösung. Mäuse: BDF₁, Weibchen 19-21 g. Die Präparate wurden intraabdominös verabfolgt.

Tabelle 6

Präparat	Einmalige Dosis mg/kg	Regime der Verabfolgung Tage	Anzahl der Tiere im Experiment	% der überlebenden Tiere	Veränderung des Gewichts	Lebensdauer der Tiere im Versuch (Tage)
Cu(acac) ₂ M	5	1-7	6	100	-1,5	60
Kontrolle	5	1-7	6	0	+0,7	8,5

5b. Leukämie P-388

Inokulum: 10^6 Zellen in 0,2 ml physiologischer Kochsalzlösung. Mäuse:

5 BDF₁. Weibchen 19-21 g

Tabelle 7

Präparat	Ein-malige Dosis mg/kg	Regime der Verabfolgung Tage	Anzahl der Tiere im Experiment	Anzahl der Tiere, die bis zum 60. Tag überlebt hatten	Durchschnittl. Lebensdauer, Tage	Zunahme der durchschnittl. Lebensdauer %	Veränderung des Gewichtes
Cu(acac) ₂ M	5	1-7	6	0	16,8	56,0	-2,5
Kontrolle			6	0	10,8	-	+1,6

Die Präparate wurden intraabdominal verabfolgt. Cu(acac)₂M war in 10 %
15 Twin 80 aufgelöst.

Tabelle 8

Stamm	Präparat	Dosis mg/kg	Regime (Tage nach der Verpflanzung)	ILS %	Anzahl der überlebenden Tiere/Anzahl der Tiere in der Gruppe
P-388 (Ausgangsstamm)	Cu(acac) ₂ M	5	1-7	56	-
		10	1,5,9	419	5/6
		10	1,7	465	4/6
		15	1,7	447	5/6
Medikamentenresistente Tumore					
P388/ph	Cu(acac) ₂ M	5	1-7	189	2/6
P388/vcr		5	1-7	516	5/6
P388/cPt		5	1-7	193	-

Wie aus den Tabellen 6 bis 8 zu entnehmen ist, wurden die interessantesten Resultate bei Leukämie P-388 mit multifaktorieller Medikamentenresistenz erzielt. Diese, auf zahlreiche Antitumormittel nur schwach reagierenden Tumore, waren gegenüber dem erfindungsgemäßen
5 Präparat sensibel.

Ebenso bemerkenswert ist die Wirkung gegenüber L-1210, da alle Tiere der Versuchsgruppe 60 Tage nach der Transplantation des Tumors überlebten. Eine solche Überlebensdauer entspricht ihrer völligen Ausheilung.

10 **Beispiel 4: Immunmodulatorische Eigenschaften der erfindungsgemäßen Komplexe am Beispiel von $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$**

Die immunmodulatorischen Eigenschaften des erfindungsgemäßen
15 Komplexes $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ wurden anhand der Vermehrung der Antikörper-bildenden Zellen von weißen, rassellosen Mäusen (mittleres Gewicht: 20 g) bestimmt. Die Mäuse wurden intraperitoneal mit 2×10^8 Schaf-Erythrozyten in 0,2 ml physiologischer Kochsalzlösung immunisiert.
Eine halbe Stunde nach erfolgter Immunisierung erhielten die Mäuse 0,3 mg/kg $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ in 0,6 ml Olivenöl peroral verabreicht.
20 Nach 4 Tagen wurden die Tiere getötet, die Milz wurde entnommen, in Lösungsmittel homogen suspendiert und 0,5 ml der Suspension wurden auf einer Petrischale mit Schaf-Erythrozyten auf einem Agar ausgestrichen. Die Experimente zeigten, dass $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ in einer Dosierung von 0,3 mg/kg Körpergewicht die Anzahl der Antikörper-bildenden Zellen in
25 der Milz der immunisierten Tiere erhöhte. So betrug die Anzahl der Antikörper bildenden Zellen der Kontrollgruppe, der nur 0,6 ml Olivenöl peroral verabreicht wurde, 76.000 ± 5.000 , während die Anzahl der Antikörper-bildenden Zellen der immunisierten Tiere 158.000 ± 7.000
30 betrug.

**Beispiel 5: Toxizitätsuntersuchungen der erfundungsgemäßen Komplexe am
Beispiel von $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$**

Die Toxizität des erfundungsgemäßen Komplexes $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ wurde an fünf Labortierarten in verschiedenen Tests bestimmt. Die Resultate der Untersuchungen zeigten, dass $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ in einer Dosierung von 5 mg/kg Körpergewicht keine schweren Veränderungen im peripheren Blutbild verursacht, keine pathologischen Einflüsse auf die Nieren- und Leberfunktion hat und in den Organen und Geweben keine spezifischen Veränderungen hervorruft. Zusätzlich konnte durch die Untersuchungen gezeigt werden, dass $(C_5H_7O_2)_2\text{-Cu-C}_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ selbst bei einer längeren Verabreichungsdauer keine Resistenzen hervorruft.

Ansprüche

1. Komplex der allgemeinen Formel

5

$$D_2 - M - T,$$

wobei

D ein β -Diketon darstellt,

M ein Metallatom, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Cr, Cu, Mn, Fe, Ni, Co, Zn und Mo darstellt,

T eine Substanz mit mindestens einer N-, O- oder S-enthaltenden Gruppe darstellt und

wobei M mit T in einer Elektronen-Donor-Akzeptor-Wechselwirkung steht und M im Komplex eine freie Koordinationsstelle aufweist.

15

2. Komplex nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet,

dass D ausgewählt ist aus Acetylaceton, Dibenzoylmethan und

20

Diethyldithiocarbamin.

3. Komplex nach Anspruch 1 oder 2,

dadurch gekennzeichnet,

dass T eine Substanz mit mindestens einer NH₂-, NH-, N-, O- oder S-Gruppe ist.

25

4. Komplex nach einem der Ansprüche 1 bis 3,

dadurch gekennzeichnet,

30

dass T eine Substanz, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus 2,4-Dihydroxy-5-fluorpyrimidin, 5-Fluor-1-(tetrahydro-2-furyl)-uracil, 2-[Bis-(2-chlorethyl)-amino]-tetrahydro-2H-1,3,2-oxazephosphorin-2-oxid, 1,2-Imidopropylsäureamid, 2-

Hydroxymethyl-5-hydroxy- γ -pyrone, 2,4,6-Trimethylpyridin, 2,4,6-Tri-2-pyridyl-1,3,5-triazin, 4-[Bis-(2-chlorethyl)-amino]-L-phenylalanin, 2-(3-Pyridyl)-piperidin, 2-2'-Bipyridin, 2-Methyl-(5-trimethyl-butyl-1-il-ol-3)-pyridin, 2-Methyl-(3-dimethyl-amino-1-propinyl)-pyridin und 2-Methyl-5-ethylen-pyridin, ist.

5. Komplex nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass D Acetylaceton, M Cu und T eine Substanz, ausgewählt aus
der Gruppe, bestehend aus 2,4-Dihydroxy-5-fluorpyrimidin, 5-Fluor-
1-(tetrahydro-2-furyl)-uracil, 2-[Bis-(2-chlorethyl)-amino]-
tetrahydro-2H-1,3,2-oxazephosphorin-2-oxid, 1,2-
Imidopropylsäureamid, 2-Hydroxymethyl-5-hydroxy- γ -pyrone, 2,4,6-
Trimethylpyridin, 2,4,6-Tri-2-pyridyl-1,3,5-triazin, 4-[Bis-(2-
chlorethyl)-amino]-L-phenylalanin, 2-(3-Pyridyl)-piperidin, 2-2'-
Bipyridin, 2-Methyl-(5-trimethyl-butyl-1-il-ol-3)-pyridin, 2-Methyl-(3-
dimethyl-amino-1-propinyl)-pyridin und 2-Methyl-5-ethylen-pyridin,
ist.
20. 6. Komplex nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass D Acetylaceton, M Mn und T eine Substanz, ausgewählt aus
der Gruppe, bestehend aus 2,4,6-Trimethylpyridin, 2,4,6-Tri-2-
pyridyl-1,3,5-triazin, 2-2'-Bipyridin, 2-(3-Pyridyl)-piperidin, 1,2-
Imidopropylsäureamid und 4-[Bis-(2-chlorethyl)-amino]-L-
phenylalanin, ist.
25. 7. Komplex nach einem der Ansprüche 1 bis 6,
dadurch gekennzeichnet,
dass er eine Antitumorwirksamkeit aufweist.

8. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend mindestens einen Komplex nach einem der Ansprüche 1 bis 7.
9. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 8 zur Behandlung von Tumoren.
5
10. Verwendung eines Komplexes nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumoren.

Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft Komplexe der allgemeinen Formel

5



wobei

D ein β -Diketon, M ein Metallatom und T eine Substanz mit mindestens einer N-, O- oder S-enthaltenden Gruppe darstellt, sowie deren Verwendung als Antitumormittel.

10

15 wr/ANM/25628PDE/17.01.2002